

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-132000

(43)公開日 平成6年(1994)5月13日

(51)Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
H 0 1 J 37/20	A			
G 0 1 N 1/28	W	6928-2 J		
H 0 1 J 37/26				

審査請求 未請求 請求項の数2(全 5 頁)

(21)出願番号	特願平4-277178
(22)出願日	平成4年(1992)10月15日

(71)出願人	000004271 日本電子株式会社 東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号
(71)出願人	390001476 日本電子ライオソニック株式会社 東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号
(71)出願人	000232324 日本電子エンジニアリング株式会社 東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号
(72)発明者	原口康史 東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号日本電 子ライオソニック株式会社内
(74)代理人	弁理士 荏澤 弘 (外7名)

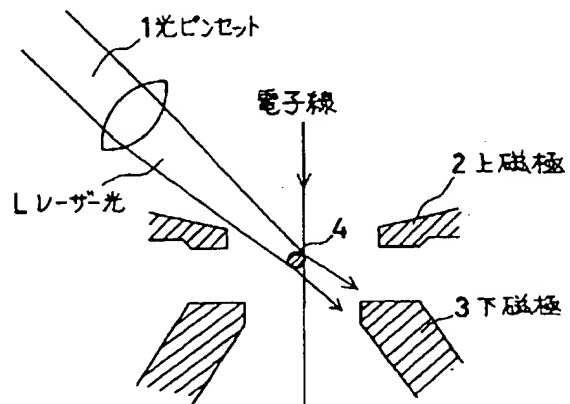
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 電子顕微鏡等の試料支持方法及び支持装置

(57)【要約】

【目的】 支持膜を使用することなく、微小な試料を通  
過した電子線を乱さないで、真空空間中の最適試料位置  
に微小試料を支持する。

【構成】 微小試料又は微小試料を表面に付着させた微  
小物体4を光ピンセット1の集束光束の焦点近傍に光ト  
ラップし、その状態で電子顕微鏡等の空間中の試料位置  
に固定する。そのため、電子線を乱して解像力を落とす  
支持膜が不要になり、また、電場、磁場等の影響を全く  
受けずに対物レンズの最も収差の小さい最適位置に試料  
を固定でき、高分解能で試料を観察することができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 電子線、イオン線等により微小試料を観察、分析する電子顕微鏡等の試料支持方法において、微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を集束光束の焦点近傍に光トラップし、その状態で電子顕微鏡等の空間中の試料位置に固定することを特徴とする電子顕微鏡等の試料支持方法。

【請求項2】 電子線、イオン線等により微小試料を観察、分析する電子顕微鏡等の試料支持装置において、電子顕微鏡等の空間中の試料位置に調節自在に単数又は複数の光ピンセットを設け、該光ピンセットにより微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を試料位置に固定するようにしたことを特徴とする電子顕微鏡等の試料支持装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、電子顕微鏡等の試料支持方法及び支持装置に関し、特に、光ピンセットを用いて微小試料を空中に支持し、移動できる試料支持方法及び支持装置に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来、電子顕微鏡において特に微小な生物試料を支持して観測する場合、図7に模式的に示すように、銅メッシュの上にカーボン支持膜を張り、その上に試料を載せて電子線を当てることにより拡大観察している。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】ところで、最近、電子顕微鏡の分解能が上がってきて数 $\mu\text{m}$ 程度以下の試料を観測するニーズが出てきた。しかしながら、上記のカーボン支持膜はいくら薄くしても100 $\mu\text{m}$ 程度あり、その上に数 $\mu\text{m}$ 程度の試料を載せて電子線を当てると、試料を透過した電子線はカーボン支持膜の不均一性により乱されるため、このような微小な試料を明瞭に見ることは困難である。

【0004】また、電子顕微鏡において、試料は通常対物レンズのポールピース（磁極）の間隙に配置されるが、対物レンズの最も収差の小さい最適位置に固定するのが難しかった。

【0005】本発明はこのような問題点に鑑みてなされたものであり、その目的は、支持膜を使用することなく、微小な試料を通過した電子線を乱さないで、真空空間中の最適試料位置に微小試料を支持する方法と装置を提供することである。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成する本発明の電子顕微鏡等の試料支持方法は、電子線、イオン線等により微小試料を観察、分析する電子顕微鏡等の試料支持方法において、微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を集束光束の焦点近傍に光トラップし、

その状態で電子顕微鏡等の空間中の試料位置に固定することを特徴とする方法である。

【0007】また、本発明の電子顕微鏡等の試料支持装置は、電子線、イオン線等により微小試料を観察、分析する電子顕微鏡等の試料支持装置において、電子顕微鏡等の空間中の試料位置に調節自在に単数又は複数の光ピンセットを設け、該光ピンセットにより微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を試料位置に固定するようにしたことを特徴とするものである。

## 【0008】

【作用】本発明においては、微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を集束光束の焦点近傍に光トラップし、その状態で電子顕微鏡等の空間中の試料位置に固定するので、電子線を乱して解像力を落とす原因となる支持膜が不要になり、また、電場、磁場等の影響を全く受けずに対物レンズの最も収差の小さい最適位置に試料を固定でき、それらのために、高分解能で試料を観察することができる。また、試料の移動調節に従来のような高価なゴニオメータが不要になる。さらに、微小試料に引っ張り力等の作用を加えることができ、観察の自由度が広がる。

## 【0009】

【実施例】以下、本発明の電子顕微鏡等の試料支持方法及び支持装置の実施例について説明するが、その前に、本発明において使用する光ピンセットについて説明する。光ピンセットは、強力な光を1点に集光するとき、物体がその焦点に向かって引き寄せられる現象を利用して、物体をその焦点近傍にトラップするものである。図6はこの現象を簡単説明するための図であり、球形で屈折率が周囲の媒体より大きい物体Aを集束光Bの焦点F近傍に置くと、同図(a)のように、球Aが丁度焦点Fにあるときには、光は直進して力が作用しないが、同図(b)のように、球Aが焦点Fより上にあると、光は相対的に上の方に屈折され、光線は上向きの運動量を得ることになるので、その反作用として物体Aは二重矢印で示したように下向きの運動量を得て焦点Fへ向かって移動する。これに対して、同図(c)のように、球Aが焦点Fより下にあると、光は相対的に下の方に屈折され、光線は下向きの運動量を得ることになるので、その反作用として物体Aは二重矢印で示したように上向きの運動量を得て焦点Fへ向かって移動する。また、同図(d)のように、球Aが焦点Fより右にあると、光は相対的に右の方に屈折され、光線は右向きの運動量を得るので、物体Aは二重矢印で示したように左向きの運動量を得て焦点Fへ向かって移動する。結局、何れの場合も、物体Aは焦点Fへ引き寄せられ、そこで安定する。集束光Bが移動しその焦点Fが移動すると、物体Aもそれに伴って移動する。これが光ピンセットの原理である。

【0010】本発明は、この光ピンセットを用いて、電子線、イオン線等により微小試料を観察、分析する電子

顕微鏡等における試料支持を行うことにする。図1はその1実施例の要部断面図であり、図2は高分子ビーズ部の拡大図である。この場合は、対物レンズを構成する上磁極2と下磁極3の間の最も収差の小さい真空中間位置に、光ピンセット1のレーザー光Lにより高分子ビーズ4をトラップして固定支持する。そして、その高分子ビーズ4の表面にタンパク粒子等の試料Sを付着させておき、電子顕微鏡の電子線をその試料Sにのみ当てて拡大観察することにより、電子線が従来の支持膜等の解像力を落とす物体を通過しないようにできるので、試料Sを高分解能で見ることができる。なお、高分子ビーズ4としては、直径数 $\mu\text{m}$ のラテックス等の高分子からなるビーズを用いるとよい。この場合、電場、磁場等の影響を全く受けずに任意の位置に自由に試料を移動固定できるので、対物レンズの最も収差の小さい最適位置に試料を移動して観察でき、その面からもより高分解能で試料を観察することができる。また、試料の移動調節に従来のような高価なゴニオメータが不要になるメリットもある。なお、以上において、高分子ビーズ4を用いないで、試料Sを直接光ピンセット1でトラップして固定支持するようにしてもよい。

【0011】ところで、図3に示すように、2つの光ピンセット1、1'と2つの高分子ビーズ4、4'を用い、長い分子のような試料Sを高分子ビーズ4、4'間に架橋させ、光ピンセット1、1'でこの高分子ビーズ4、4'間の間隔を矢印のように広げることにより架橋した試料Sを引き伸ばして固定し、この状態で引き伸ばした試料Sを観察することができる。

【0012】さて、次に、電子顕微鏡等の空間中の試料位置へ浮いた状態で高分子ビーズ4又は試料Sを持って行って固定する方法について、図4(a)の断面図、及び、同図(b)のメカニズムを模式的に示す図を参照にして説明する。微小試料を付着した高分子ビーズ4又は微小試料それ自体を操作棒6の先端に取り付けたプレート5の上に載せ、電子顕微鏡の光路中にプレート5を挿入し、その状態で所望の高分子ビーズ4等を光ピンセット1でトラップしてプレート5から分離して空間に浮かし、残りの高分子ビーズ4等とプレート5は操作棒6を操作して光路外に退避させ、この状態で空中に固定して観察する。

【0013】さらに、図5の場合は、ヒーター7を内蔵したプレート5上に蒸発可能な微細試料Sを載せ、ヒーター7を加熱してプレート5から蒸発した試料Sを複数の光ピンセット1<sub>1</sub>～1<sub>4</sub>で補足して空間中に固定して支持する例である。

【0014】以上、本発明の電子顕微鏡等の試料支持方法及び支持装置をいくつかの実施例に基づいて説明してきたが、本発明はこれら実施例に限定されず種々の変形が可能である。なお、以上において、光ピンセット1の詳

細は触れなかったが、例えば、試料S又は高分子ビーズ4に影響を及ぼさない波長のレーザーからの光を光ファイバー、反射鏡、レンズ列等の光学手段を用いて所定位置へガイドし、その光をレンズ又はミラーを用いてトラップ位置に集光させればよく、その集光位置(焦点)の移動は、光源を含む全体の装置を移動させて行ってもよく、又は、光源と集光光学系を切り離し、両者を相互に移動可能にする光ファイバー等で両者を光学的に結ぶようにしてもよい。

#### 10 【0015】

【発明の効果】以上の説明から明らかなように、本発明の電子顕微鏡等の試料支持方法及び支持装置によると、微小試料又は微小試料を表面に付着させた微小物体を集束光束の焦点近傍に光トラップし、その状態で電子顕微鏡等の空間中の試料位置に固定するので、電子線を乱して解像力を落とす原因となる支持膜が不要になり、また、電場、磁場等の影響を全く受けずに対物レンズの最も収差の小さい最適位置に試料を固定でき、それらのために、高分解能で試料を観察することができる。また、試料の移動調節に従来のような高価なゴニオメータが不要になる。さらに、微小試料に引っ張り力等の作用を加えることができ、観察の自由度が広がる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明による電子顕微鏡等の試料支持装置の1実施例の要部断面図である。

【図2】図1の高分子ビーズ部の拡大図である。

【図3】別の実施例の支持方法を説明するための図である。

【図4】試料位置へ試料等を持って行って固定する方法を説明するための図である。

【図5】試料等を持って行って固定する別の方法を説明するための図である。

【図6】光ピンセットの原理を説明するための図である。

【図7】従来の微小試料の支持方法を説明するための図である。

#### 【符号の説明】

A…球形物体

B…集束光

F…焦点

S…試料

L…レーザー光

1、1'、1<sub>1</sub>～1<sub>4</sub>…光ピンセット

2…上磁極

3…下磁極

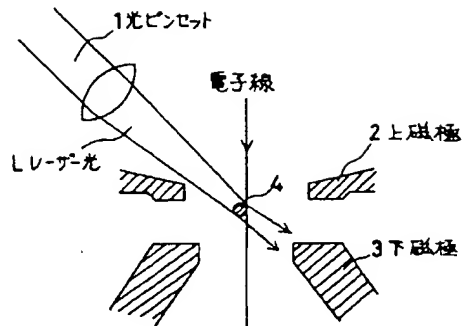
4、4'…高分子ビーズ

5…プレート

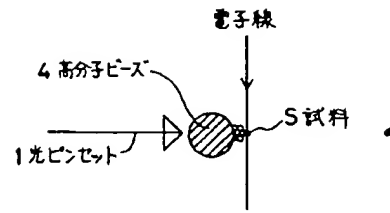
6…操作棒

7…ヒーター

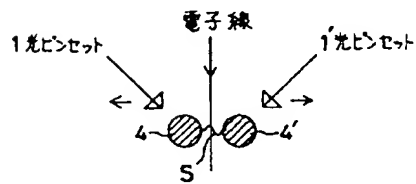
【図1】



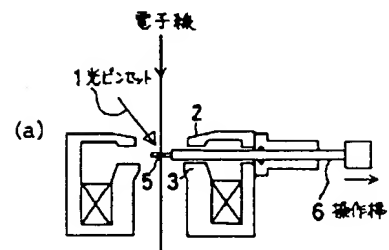
【図2】



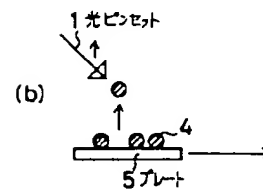
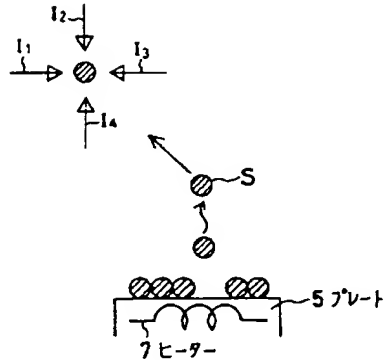
【図3】



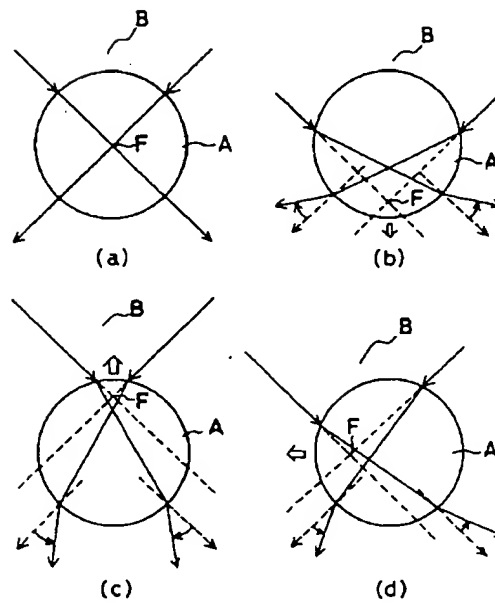
【図4】



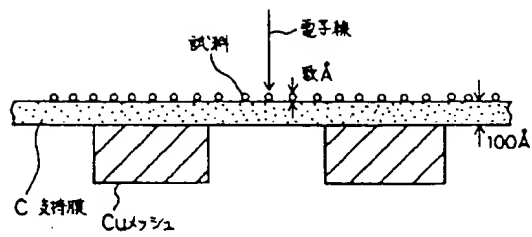
【図5】



【図6】



【図7】



---

フロントページの続き

(72)発明者 奥富昭次  
東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号日本電  
子エンジニアリング株式会社内

JPAB

CLIPPEDIMAGE= JP406132000A

PAT-NO: JP406132000A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 06132000 A

TITLE: SAMPLE SUPPORTING METHOD AND SUPPORTING DEVICE FOR ELECTRON  
MICROSCOPE  
AND THE LIKE

PUBN-DATE: May 13, 1994

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

HARAGUCHI, YASUSHI

OKUTOMI, SHOJI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

JEOL LTD

N/A

NIPPON DENSHI RAISONITSUKU KK

N/A

NIPPON DENSHI ENG KK

N/A

APPL-NO: JP04277178

APPL-DATE: October 15, 1992

INT-CL\_(IPC): H01J037/20; G01N001/28 ; H01J037/26

US-CL-CURRENT: 250/311

ABSTRACT:

PURPOSE: To observe a sample at high resolution by light-trapping the fine sample or a fine object stuck with the fine sample on the surface near the focal point of the convergent light flux, and fixing the position.

CONSTITUTION: A polymer bead 4 is trapped, fixed, and supported by the laser beam L of light tweezers 1 at the vacuum space position having the minimum aberration between the upper magnetic pole 2 and the lower magnetic pole 3 of an objective lens. A sample S such as protein grains is stuck on the surface of the bead 4, and the electron beam of an electron microscope is put only on the sample S to magnify and observe it. The sample S can be observed at high resolution, not through an object reducing the resolution. A bead of latex having the diameter of several  $\mu\text{m}$  is effective for the polymer bead 4.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO&Japio